# WELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM

Internationales Büro
INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

(51) Internationale Patentklassifikation 5: (11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 94/19687 A1 G01N 30/48, B01D 15/08 (43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 1. September 1994 (01.09.94)

(21) Internationales Aktenzeichen:

PCT/EP94/00488

(22) Internationales Anmeldedatum: 18. Februar 1994 (18.02.94)

(81) Bestimmungsstaaten: CZ, JP, US, europäisches Patent (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL,

(30) Prioritätsdaten:

PCT/EP93/00447 26. Februar 1993 (26.02.93) wo (34) Länder für die die regionale oder internationale Anmeldung eingereicht worden ist:

GB usw.

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): MERCK PATENT GMBH [DE/DE]; Frankfurter Strasse 250, D-64293 Darmstadt (DE).

(72) Erfinder; und

- (75) Erfinder/Anmelder (nur für US): CABRERA, Karin [DE/DE]; Mühlweg 14, D-63303 Dreieich (DE). SÄTTLER, Günther [DE/DE]; Scribastrasse 15, D-64354 Reinheim (DE). WIELAND, Gerhard [DE/DE]; Im Bangert 19, D-64625 Bensheim (DE).
- (74) Gemeinsamer Vertreter: MERCK PATENT GMBH; Frankfurter Strasse 250, D-64293 Darmstadt (DE).

Veröffentlicht

Mit internationalem Recherchenbericht. Vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche zugelassenen Frist. Veröffentlichung wird wiederholt falls Anderungen

(54) Title: SEPARATOR

(54) Bezeichnung: TRENNMTITEL

(57) Abstract

Porous ceramic shaped bodies are used as a substance separating medium, in particular as a stationary phase for chromatography. Also disclosed are surface-modified porous ceramic shaped bodies, as well as chromatography columns and cartridges containing the porous ceramic shaped bodies as stationary phase.

(57) Zusammenfassung

Gegenstand der Erfindung ist die Verwendung von porösen keramischen Formkörpern als Medium für Stofftrennungen, insbesondere als stationäre Phase für die Chromatographie. Weiterhin betrifft die Erfindung oberflächenmodifizierte poröse keramische Formkörper, sowie Chromatographiesäulen und -kartuschen, die poröse keramische Formkörper als stationäre Phase enthalten.

### LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

A 1917	Österreich	GA	Gabon	MOR	Mauretanien
AT	*******				
ΑŪ	Australien	GB	Vereinigtes Königreich	MW	Malawi
BB	Barbados	GE	Georgien	NE	Niger
BE	Belgien	GN	Guinea	NL	Niederlande
BF	Burkina Faso	GR	Griechenland	NO	Norwegen
BG	Bulgarien	HU	Ungarn	NZ	Neusceland
BJ	Benin	Œ	Irland	PL	Polen
BR	Brasilica	IT	Italien	PT	Portugal
BY	Belarus	JP	Japan	RO	Ruminien
CA	Kanada	KE	Kenya	RU	Russische Föderation
CF	Zentrale Afrikanische Republik	KG	Kirgisistan	SD	Sudan
CG	Kongo	· KP	Demokratische Volksrepublik Korea	SE	Schweden
CH	Schweiz	KR	Republik Korea	SI	Slowenica
CI	Côte d'Ivoire	KZ	Kasachstan	SK	Slowakci
CM	Kamerun	C.I	Liechteostein	SN	Senegal
CN	China	LK	Sri Lanka	TD	Techad
CS	Tachechoslowakei	LU	Luxemburg	TG	Togo
CZ	Tschechische Republik	ĹŸ	Lettland	- TJ	Tadschikistan
DE	Deutschland	MC	Monaco	TT	Trinidad und Tobago
DK	Dänemark	MD	Republik Moldan	UA	Ukraine
ES	Spanico	MG	Madagaskar	US	Vereinigte Staaten von Amerika
FI	Finnland	MIL	Mali	UZ	Usbekistan
FR	Prankreich	MN	Mongolei	VN	Vietnam

#### **Trennmittel**

#### Beschreibung

- Die Erfindung betrifft die Verwendung von porösen keramischen Formkörpern als Medium für Stofftrennungen, insbesondere als stationäre Phase in der Chromatographie. Die Erfindung betrifft weiterhin keramische Formkörper, deren Porenoberflächen modifiziert sind.
- Stofftrennungen im Sinne der Erfindung umfassen im wesentlichen chromatographische Trennungen, beispielsweise mittels Säulen-,
   Dünnschicht- oder Gaschromatographie, Flüssig-Flüssig-Extraktionen,
   Adsorptions- und Desorptionsverfahren unter Beteiligung einer Gasphase oder einer flüssigen Phase und elektrophoretische Trennungen. Nicht umfaßt unter diesem Begriff sind destillative und mechanische Trennungen, beispielsweise Filtrationen.

Bei den Verfahren der Säulenflüssigkeitschromatographie werden Chromatographierohre benutzt, die an beiden Enden mit Filterelementen verschlossen sind, und die mit Anschlußstücken für Zu- und Ableitung für Elutionsmittel versehen sind. In diese Rohre werden pulverförmige Sorbentien eingefüllt. Anstelle von Chromatographierohren, bei denen alle Bauelemente ausgetauscht werden müssen, werden auch Kartuschensysteme benutzt, bei denen lediglich ein Rohr mit

- Filterelementen, das ein pulverförmiges Sorbens enthält, ausgetauscht werden muß. Die Verschraubungen sind weiterverwendbar. Derartige Kartuschensysteme sind in EP-B-0 268 185 und in EP-B-0 305 817 beschrieben. Bei derartigen Säulenpackungen bestehend aus losen pulverförmigen Sorbentien kommt es beispielsweise durch mechanische Beanspruchung zu Veränderungen, wodurch die Reproduzierbarkeit zwischen Chromatographieläufen verringert wird.
  - Aufgabe der Erfindung ist es, stationäre Phasen mit stabiler Struktur für Stofftrennungen, insbesondere für die Chromatographie, beispielsweise für die Dünnschicht- und Säulenchromatographie, bereitzustellen.

20

25

35

Diese Aufgabe wird erfindungsgemäß durch die Verwendung von porösen keramischen Formkörpern für Stofftrennungen gelöst.

- Gegenstand der Erfindung ist die Verwendung von porösen keramischen
  Formkörpern für Stofftrennungen mit der Maßgabe, daß diese Formkörper
  mit dreidimensional interkonnektierendem Porensystem nicht durch
  Formgebung einer plastisch verformbaren und anschließend verfestigbaren
  Masse hergestellt werden, wobei man den Formkörper schichtenweise durch
  wiederholte Abfolge der Schritte
- Erzeugung einer entsprechend dem Porensystem bildartig strukturierten
   Schicht aus der Masse
  - Verfestigung der Schicht aufbaut, und wobei man die Bildstrukturen der einzelnen Schichten von entsprechenden Vorlagen überträgt.

Gegenstand der Erfindung ist ein poröser keramischer Formkörper, dessen Porenflächen modifiziert sind, und dessen Verwendung für Stofftrennungen. In einer besonders bevorzugten Ausführungsform sind die Mantelflächen dieses Formkörpers unporös oder mit einem dichten Überzug versehen.

Gegenstand der Erfindung ist eine Chromatographiesäule ausgerüstet mit Anschlußstücken für Zu- und Ableitung für Elutionsmittel, dadurch gekennzeichnet, daß als stationäre Phase ein poröser keramischer Formkörper enthalten ist.

Gegenstand der Erfindung ist eine Kartusche für die Flüssigkeitschromatographie, dadurch gekennzeichnet, daß als stationäre Phase ein poröser keramischer Formkörper enthalten ist.

In der Abbildung 1 ist eine erfindungsgemäße Chromatographiesäule dargestellt.

In der Patentanmeldung DE 42 05 969 wird ein spezielles Verfahren zur Herstellung poröser keramischer Formkörper, sowie die Verwendung derartiger Formkörper für die Chromatographie offenbart: Poröse Formkörper mit dreidimensional interkonnektierendem Porensystem werden durch Formgebung

einer plastisch verformbaren und anschließend verfestigbaren Masse hergestellt, wobei man den Formkörper schichtenweise durch wiederholte Abfolge der Schritte

- Erzeugung einer entsprechend dem Porensystem bildartig strukturierten Schicht aus der Masse
- Verfestigung der Schicht aufbaut, und wobei man die Bildstrukturen der einzelnen Schichten von entsprechenden Vorlagen überträgt.
- Es hat sich jedoch herausgestellt, daß auch nach anderen Verfahren hergestellte poröse keramische Formkörper als stationäre Phase bei der Chromatographie oder anderen Verfahren der Stofftrennung eingesetzt werden können.
- Erfindungsgemäß können die dem Fachmann für die Herstellung von Keramiken bekannten Materialien benutzt werden, die bei Temperaturen zwischen 600 und 2000 °C gesintert werden. Dazu gehören oxidische und nichtoxidische anorganische Materialien wie z.B. Oxide, Carbide, Boride, Nitride sowie Mischungen davon. Beispiele solcher Materialien sind insbesonders calciumphosphathaltige Verbindungen wie Hydroxylapatit, SiO<sub>2</sub>, Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, SiC, SiOC, ZrO<sub>2</sub>, TiO<sub>2</sub> und BN.

Herkömmliche Chromatographiesäulen können eine im wesentlichen monomodale Porengrößenverteilung aufweisen, wenn die verwendeten Partikel 25 eng klassiert und nicht porös sind; sie weisen eine im wesentlichen bimodale Porengrößenverteilung auf, beispielsweise wenn die Säulenpackung aus eng klassierten porösen Partikeln besteht. Auch andere Porengrößenverteilungen sind bei herkömmlichen Chromatographiesäulen bekannt. Entsprechend können die erfindungsgemäß benutzten porösen 30 Formkörper eine im wesentlichen monomodale Porengrößenverteilung oder eine im wesentlichen bimodale Porengrößenverteilung aufweisen. Auch andere Porengrößenverteilungen können erfindungsgemäß benutzt werden. Dazu gehören auch durchgängige kanalförmige Poren. Dem Fachmann sind geeignete Verfahren zur Herstellung von porösen keramischen Formkörpern 35 aus verschiedenartigen Materialien bekannt. Geeignete Ausgangsmaterialien und Verfahrensvarianten sind in Handbüchern wie Ullmann's

Encyclopedia of Industrial Chemistry (1986) Verlag Chemie und in Kingery, W.D., Bowen, H.K., und Uhlmann, D.R. (1976) Introduction to Ceramics, John Wiley Verlag, beschrieben. Entsprechend dem Verwendungszweck können die erfindungsgemäß verwendeten porösen keramischen

Formkörper verschiedene geometrische Formen, wie z.B. Zylinder, Prismen, Quader, Kegel, Scheiben oder Platten, aufweisen. Beispielsweise werden bei der Verwendung für die Säulenchromatographie zylinderförmige poröse Formkörper bevorzugt, bei der Dünnschichtchromatographie scheiben- oder plattenförmige Formkörper.

10

Bei herkömmlichen chromatographischen Trennverfahren werden häufig chemisch modifizierte Trennmaterialien eingesetzt, um unterschiedlichste Selektivitäten für die verschiedenen Prinzipien der chromatographischen Stofftrennung zu erreichen:

- 15 Adsorptionschromatographie,
  reversed phase (RP) Chromatographie,
  Verteilungschromatographie,
  Gelpermeationschromatographie,
  hydrophobe Interaktionschromatographie,
- Affinitätschromatographie,
  Ionenaustauschchromatographie,
  chromatographische Trennung von Racematen an chiralen Trägern,
  selektive Adsorption und Desorption.
- Die Adsorptionschromatographie wird u. a. auch bei der Probenvorbereitung als spezielle Ausführungsform eingesetzt. Dabei werden Sorbentien, die im wesentlichen aus einem anorganischen Basisträger bestehen, beispielsweise aus SiO<sub>2</sub> oder Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, an der Oberfläche modifiziert, um das Trennmögen des Materials zu beeinflussen. Grundsätzlich können die zur Modifizierung chromatographischer Trägermaterialien eingesetzten Verfahren auch zur Modifizierung der erfindungsgemäßen Formkörpern benutzt werden; geeignete Modifikationsverfahren sind dem Fachmann bekannt. Der erfindungsgemäß verwendete Begriff "oberflächenmodifiziert" ist in diesem Sinn zu verstehen. Beispiele derartiger für den genannten
- Zweck bekannter Oberflächenmodifikationen sind:a) Die Derivatisierung mit Silanderivaten der Formel I

ı

 $SiX_nR^1_{(3-n)}R^2$ 

worin

5 X Methoxy, Ethoxy oder Halogen,

R<sup>1</sup> C<sub>1</sub> - C<sub>5</sub> -Alkyl,

n 1, 2 oder 3

bedeuten und

R<sup>2</sup> eine der im folgenden angegebene Bedeutungen besitzt:

- 10 a1) unsubstituiertes oder substituiertes Alkyl oder Aryl, wie z.B. n-Octadecyl, n-Octyl, Benzyl- oder Cyanopropyl;
  - a2) anionische oder saure Reste, wie z.B. Carboxypropyl;
  - a3) kationische oder basische Reste, wie z.B. Aminopropyl, Diethylaminopropyl oder Triethylammoniumpropyl;
- a4) hydrophile Reste, wie z.B. (2,3-Dihydroxypropyl)-oxypropyl;
  - a5) bindungsfähige aktivierte Reste, wie z.B. (2,3-Epoxypropyl)-oxypropyl.
- b) Die Adsorption oder chemische Bindung von Polymeren wie Polybutadien, Siloxanen, Polymeren auf der Grundlage von Styrol/Divinylbenzol, von (Meth)acrylsäurederivaten oder von anderen Vinylverbindungen, sowie von Peptiden, Proteinen, Polysacchariden und Polysaccharidderivaten an dem Basisträger;
- c) Die chemische Bindung von unter b) genannten Polymeren über die unter
   a) genannten Derivate; dazu gehören Pfropfpolymerisate von Poly(meth)acrylsäurederivaten auf diolmodifiziertem Kieselgel nach EP-B-0 337 144.
- d) Die Adsorption oder chemische Bindung von chiralen Phasen, wie z.B.
   von Aminosäurederivaten, Peptiden oder Proteinen, oder von
   Cyclodextrinen, Polysacchariden oder Polysaccharidderivaten.

Weitere gebräuchliche Derivatisierungsmöglichkeiten und Derivatisierungsverfahren sind dem Fachmann bekannt und in gängigen Handbüchern wie Unger, K.K. (ed) Porous Silica, Elsevier Scientific Publishing Company

35 (1979) oder Unger, K.K. Packings and Stationary Phases in Chromatographic Techniques, Marcel Dekker (1990) beschrieben.

10

15

20

Die erfindungsgemäßen Formkörper besitzen die für Säulen in der Flüssigkeitschromatographie gebräuchlichen Abmessungen: 2 - 10 mm Durchmesser für analytische Anwendungen und größere Durchmesser (bis zu ca. 0,5 m) für präparative Anwendungen; die Länge beträgt wenige Millimeter bis zu 50 cm, jedoch werden in Spezialfällen auch Säulen von bis zu 2 m Länge eingesetzt. Die erfindungsgemäßen Formkörper sind sowohl als Trenn- als auch als Vorsäulen geeignet. Dabei entfällt das Packen von Säulen oder Kartuschen, wodurch insbesondere bei Vorsäulen, die häufig nur einmal verwendet werden, eine große Ersparnis entsteht. Die erfindungsgemäßen Formkörper stellen ein im Vergleich zu herkömmlichen Sorbenspackungen festes, unveränderliches Sorbensbett dar. Nach ihrer Verwendung sind die erfindungsgemäß benutzten Formkörper leicht zu entsorgen, da diese im Gegensatz zu Säulen oder Kartuschen im wesentlichen nur aus dem keramischen Material bestehen.

Bei der Verwendung als Träger für die Dünnschichtchromatographie sind die Formkörper als dünne Schichten ausgebildet, die zusätzlich einen dickeren unporösen Teil aufweisen können, oder die auf einem nicht-porösen Hilfsträger aufgebracht sein können. Bei der erfindungsgemäßen Verwendung von Formkörpern in der Dünnschichtchromatographie entfällt das aufwendige Auftragen der Sorbensschicht auf die Platte oder Folie.

Die Porosität ist eine wesentliche Eigenschaft der erfindungsgemäß verwendeten keramischen Formkörper. Die Porosität hat wesentliche Einflüsse auf das Flußverhalten, auf die für die chromatographische Trennung wirksame Oberfläche und auf die Möglichkeit, die Oberflächen des Formkörpers zu derivatisieren. Die Porosität wird als Verhältnis von Porenvolumen zum Gesamtvolumen des Formkörpers ausgedrückt. Dieses Verhältnis läßt sich beispielsweise durch die Bestimmung der mittleren Dichte des Formkörpers bestimmen, wenn die Dichte des Gerüstmaterials bekannt ist. Andere Bestimmungsmethoden für die Porosität beruhen auf der Gewichtsbestimmung vor

und nach Sättigung des Formkörpers mit Wasser oder auf der Porosometrie. Der Porositätsbereich ist abhängig von dem angewendeten Trennverfahren und den Dimensionen des Formkörpers. Für die Säulenflüssigkeitschromatographie wird ein Porositätsgrad von 20 - 75 %, insbesondere von 50 - 65 %, bevorzugt. Die Oberfläche der erfindungsgemäß verwendeten porösen Formkörpern beträgt typischerweise 1 - 1000 m<sup>2</sup>/g.

Die in der Abbildung 1 beispielhaft dargestellte erfindungsgemäße Chromatographiesäule besteht aus einem als Sorbensbett dienenden 10 porösen keramischen Formkörper (1), einem flüssigkeitsdichten Mantel (2) aus Teflon, einem Druckmantel (3) mit endständigen Überwurfmuttern (4) mit Anschlußstücken (5). Zwischen dem Formkörper und dem Anschlußstück kann ein Filter (6), beispielsweise ein Sieb aus Teflon, angeordnet sein. Um den flüssigkeitsdichten Mantel von dem Elutionsmitteldruck zu entlasten. 15 kann durch einen Anschlußstutzen (7) im Druckmantel eine druckübertragende Flüssigkeit in einen Spalt (8) zwischen flüssigkeitsdichten Mantel (2) und Druckmantel (3) gepreßt werden, wobei der dabei aufgewendete Druck im allgemeinen höher oder gleich dem Elutionsmitteldruck ist. Als druckübertragende Flüssigkeit können 20 Hydrauliköle, wäßrige Lösungen oder das Elutionsmittel dienen.

#### Beispiele:

25

#### A Behandlung und Derivatisierung von Formkörpern

#### Beispiel A1: Behandlung eines Formkörpers aus Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>

Ein handelsüblicher poröser Formkörper aus Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> mit einem Durchmesser von 4 mm und einer Länge von 125 mm (Porositätsgrad 20-30 %) wird in einer Mischung aus 125 ml Acetonitril und 125 ml Natronlauge (25 mM) gelegt und in einem Laborultraschallbad 45 Minuten beschallt. Anschließend wird der Formkörper in reinem Acetonitril nochmals beschallt (15 Mininuten).

### Beispiel A2: Behandlung eines Formkörpers aus SiO2

Ein handelsüblicher keramischen Formkörper aus SiO<sub>2</sub> mit einem Durchmesser von 4 mm, einer Länge von 125 mm und einer Porosität von 50 Vol% wird in einen mit 25%iger Salzsäure gefüllten Meßzylinder gegeben und dort 48 Stunden belassen. Anschließend wird er mehrmals mit Methanol/ Wasser gewaschen.

# 10 Beispiel A3: Modifizierung eines porösen keramischen Formkörpers

Ein handelsüblicher keramischer Formkörper aus SiO<sub>2</sub> mit einem Durchmessser von 4 mm, einer Länge von 125 mm und einer Porosität von 50 Vol% wird nach dem von Gilpin et al. beschriebenen Verfahren (Anal. Chem. 46, 1314 ff (1974)) in situ mit Methyloctadecyldichlorsilan chemisch derivatisiert: Dazu wird eine Lösung (10 % G/G) des Silans in Toluol durch den Formkörper gepumpt. Anschließend wird mit reinem Toluol gewaschen und mit Acetonitril und Acetonitril-Wasser (50:50; V:V) bis zum Erreichen einer konstanten Basislinie konditioniert.

20

15

# Beispiel A4: Herstellung eines für Vorsäulen geeigneten Formkörpers aus Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>

Nach Beispiel A1 hergestellte Formkörper werden in kurze (Länge 4 mm) Stücke getrennt, die in eine Vorsäulenhalterung passen.

# Beispiel A5: Herstellung eines porösen, chemisch modifizierten, keramischen Formkörpers

Der nach Beispiel A2 vorbehandelte Formkörper wird wie unter Beispiel A3 beschrieben chemisch modifiziert.

#### B Chromatographiesäulen und -kartuschen

#### Beispiel B1: Trennsäule mit einem porösen keramischen Formkörper

Der Formkörper aus Beispiel A1 wird in eine Halterung entsprechend Abbildung 1 eingelegt, so daß Zu- und Ableitungen für das Elutionsmittel an den Stirnseiten des Zylinders angebracht werden können und der Zylindermantel lösungsmitteldicht abgeschlossen ist. Diese Säule wird an eine übliche HPLC-Apparatur angeschlossen.

10

# <u>Beispiel B2</u>: Trennsäule mit einem derivatisierten, porösen keramischen Formkörper

Der Formkörper aus Beispiel A3 wird in eine Halterung entsprechend Abbildung 1 eingelegt, so daß Zu- und Ableitungen für das Elutionsmittel an den Stirnseiten des Zylinders angebracht werden können und der Zylindermantel lösungsmitteldicht abgeschlossen ist. Diese Säule wird an eine übliche HPLC-Apparatur angeschlossen.

20

# Beispiel B3: Trennsäule mit einem porösen, chemisch modifizierten, keramischen Formkörper

Der Formkörper aus Beispiel A5 wird in eine Halterung eingelegt, so daß Zuund Ableitungen für das Elutionsmittel an den Stirnseiten des Zylinders angebracht werden können und der Zylindermantel lösungsmitteldicht abgeschlossen ist. Diese Säule wird an eine übliche HPLC-Apparatur angeschlossen.

#### Beispiel B4: Trennsäule mit einem porösen keramischen Formkörper

Ein handelsüblicher poröser Formkörper aus ZrO<sub>2</sub> mit einem Durchmesser von 4 mm und einer Länge von 125 mm (Porositätsgrad 20-30 %) wird in eine Halterung entsprechend Abbildung 1 eingelegt, so daß Zu- und Ableitungen für das Elutionsmittel an den Stirnseiten des Zylinders angebracht werden können und der Zylindermantel lösungsmitteldicht abgeschlossen ist. Diese Säule wird an eine übliche HPLC-Apparatur angeschlossen.

10

5

#### C Anwendungsbeispiele

#### Beispiel C1: Trennung isomerer Nitroanilide

15

20

Auf die Trennsäule aus Beispiel B1 werden 5 µl einer Mischung von 2-Nitroacetanilid (88 µg/ml) und 3-Nitroacetanilid (545 µg/ml) in dem Elutionsmittel n-Heptan/Dioxan (80:20; V:V) aufgetragen. Es wird mit 0,05 ml/min eluiert und durch Messung der UV- Absorption bei 254 nm detektiert. Beide Substanzen werden getrennt nach 22 Minuten (2-Nitroacetanilid) und nach 51 Minuten (3-Nitroacetanilid) eluiert.

#### Beispiel C2: Trennung von Aromaten

25

30

Auf die Trennsäule aus Beispiel B2 werden 10 μl einer Mischung von Naphthalin (17 μg/ml), Anthracen (3 μg/ml) und Benzanthracen (600 μg/ml) in dem Elutionsmittel Acetonitril/Wasser (50:50; V:V) aufgegeben. Es wird mit einem Fluß von 1 ml/ Min. eluiert und durch UV-Absorption bei 254 nm detektiert. Alle drei Substanzen werden getrennt:

#### Retentionszeiten in Min

Naphthalin1.6Anthracen3.1Benzanthracen6.8

#### Beispiel C3: Trennung von methylierten Anilinen

Auf die Trennsäule aus Beispiel B2 werden 10 µl einer Mischung von Anilin, N-Methylanilin and N,N-Dimethylanilin in dem Elutionsmittel Acetonitril/ Wasser (75:25; V:V) aufgegeben. Es wird mit 0.8 ml/ Min eluiert und durch Messung der UV-Absorption bei 254 nm detektiert. Alle drei Substanzen werden getrennt:

	•	Aufgabe in μg/ ml	Retentionszeit in Min
10	Anilin	13.2	1.05
	N-Methylanilin	8.6	1.74
	N,N-Dimethylani	ilin 12.9	4.9

### 15 Beispiel C4: Trennung alkylierter Aniline

Auf die Trennsäule aus Beispiel B2 werden 10  $\mu$ l einer Mischung aus N,N-Dimethylanilin und N,N-Diethylanilin aufgegeben und unter den Bedingungen wie in Beispiel C3 angegeben eluiert. Beide Substanzen werden getrennt eluiert:

werden getrennt eluiert:

Aufgabe in μg/ ml

Retentionszeit in Min

N,N-Dimethylanilin

5.8

1.22

N,N-Diethylanilin

21.3

8.13

25

30

### Beispiel C5: Trennung von Phtalsäureestern

Auf die Trennsäule aus Beispiel B2 werden 10 µl einer Mischung aus Benzylbutylphthalat und Dinonylphthalat aufgegeben und unter den Bedingungen wie in Beispiel C3 angegeben eluiert. Beide Substanzen werden getrennt eluiert:

Aufgabe in μg/ ml Retentionszeit in Min Benzylbutylphthalat 130 1.03
Dinonylphthalat 410 5.66

#### Beispiel C6: Trennung von Proteinen

Auf die Trennsäule aus Beispiel B3 werden 10 µl einer Proteinmischung aus Trypsin, Ribonuclease A, Cytochrom C, BSA und Ovalbumin gelöst in 0.1% Trifluoressigsäure aufgegeben. Unter folgenden Bedingungen wird eluiert: Fluß: 0.8 ml/ Min; Detektion: UV-Absorption bei 280 nm; Eluent : A: Wasser + 0.2% Trifluoressigsäure und B: Acetonitril + 0.2% Trifluoressigsäure; Gradient: von A: 80% + B: 20% auf A: 0% + B: 100% innerhalb von 10 Min. Die 5 Proteine werden getrennt:

10

15

5

	Konzentration mg/ ml	Retentionszeit in Min
Trypsin	5.5	0.7
Ribonuclease A	2.3	3.52
Cytochrom C	2.1	4.41
BSA	3.2	5.08
Ovalbumin	6.9	5.52

#### Beispiel C7: Trennung von isomeren Nitroacetaniliden

20

25

Auf die Trennsäule aus Beispiel B4 werden 5  $\mu$ l einer Mischung aus 2-Nitroacetanilid (88  $\mu$ g/ ml) und 3-Nitroacetanilid (545  $\mu$ g/ ml) in dem Elutionsmittel n-Heptan/Dioxan (99:1; V:V) aufgetragen. Es wird mit 0,2 ml/min eluiert und durch Messung der UV- Absorption bei 254 nm detektiert. Beide Substanzen werden getrennt nach 4,4 Minuten (2-Nitroacetanilid) und nach 9,7 Minuten (3-Nitroacetanilid) eluiert.

Bei der erfindungsgemäßen Verwendung der porösen keramischen Formkörper in Kartuschensystemen sind keine zusätzlichen Säulenrohre aus
Glas oder Edelstahl notwendig, sondern lediglich die Verwendung von
wiederverwendbaren Halterungen. Da die Formkörper aus einem einheitlichen Material bestehen, ist die Entsorgung verbrauchter Kartuschen
erheblich vereinfacht. Die feste unveränderliche Packung des Sorbens
gewährleistet eine gute Reproduzierbarkeit zwischen verschiedenen
Chromatographieläufen.

Auch ohne weitere Ausführungen wird davon ausgegangen, daß ein Fachmann die obige Beschreibung im weitesten Umfang nutzen kann. Die bevorzugten Ausführungsformen sind deswegen lediglich als beschreibende, keineswegs in irgendeiner Weise begrenzende Offenbarung aufzufassen.

Die vollständige Offenbarung aller vor- und nachstehend aufgeführten Patentanmeldungen, Patente und Veröffentlichungen sind durch Bezugnahme in diese Anmeldung eingeschlossen.

15

10

5

20

25

30

10

#### **Ansprüche**

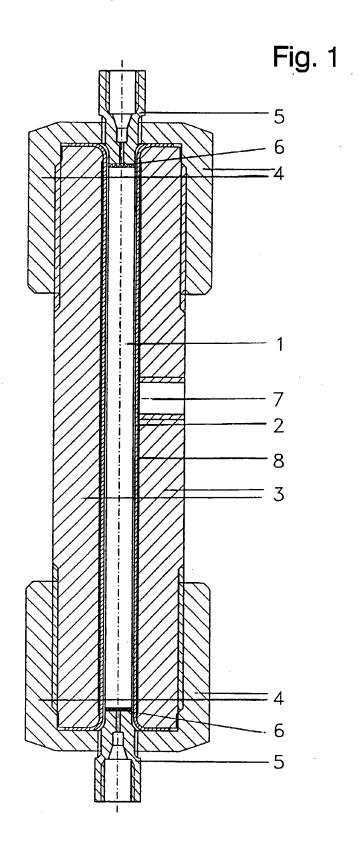
Schritte

- 1. Verwendung von porösen keramischen Formkörpern für Stofftrennungen mit der Maßgabe, daß diese Formkörper mit dreidimensional interkonnektierendem Porensystem nicht durch Formgebung einer plastisch verformbaren und anschließend verfestigbaren Masse hergestellt werden, wobei man den Formkörper schichtenweise durch wiederholte Abfolge der
- Erzeugung einer entsprechend dem Porensystem bildartig strukturierten Schicht aus der Masse
- Verfestigung der Schicht aufbaut, und wobei man die Bildstrukturen der einzelnen Schichten von entsprechenden Vorlagen überträgt.
- Verwendung von porösen keramischen Formkörpern für Stofftrennungen, dadurch gekennzeichnet, daß Formkörper verwendet werden, deren Porenflächen modifiziert sind.
- 3. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß die Stofftrennung durch Chromatographie erfolgt.
  - 4. Poröser keramischer Formkörper, dadurch gekennzeichnet, daß die Porenflächen modifiziert sind.
- 5. Formkörper nach Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, daß er die Form eines Zylinders mit kreisförmigen oder elliptischen Querschnitt oder einer prismatischen Säule besitzt.
- 6. Formkörper nach Anspruch 5, dadurch gekennzeichet, daß die Mantelfläche(n) unporös sind.
  - 7. Formkörper nach Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, daß er die Form einer flachen Scheibe oder Platte besitzt.

- 8. Chromatographiesäule ausgerüstet mit Anschlußstücken für Zu- und Ableitung für Elutionsmittel, dadurch gekennzeichnet, daß als stationäre Phase ein poröser keramischer Formkörper enthalten ist.
- 5 9. Kartusche für die Flüssigkeitschromatographie, dadurch gekennzeichnet, daß als stationäre Phase ein poröser keramischer Formkörper enthalten ist.
- 10. Verfahren zur säulenchromatographischen Auftrennung eines
   10 Gemisches, dadurch gekennzeichnet, daß eine Säule nach Anspruch 6 verwendet wird.

20

25



International application No. PCT/EP 94/00488

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC 5 G01N30/48 B01D15/08 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC **B. FIELDS SEARCHED** Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC 5 G01N B01D B01J Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used) C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT Relevant to claim No. Category \* Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages 1,3 ٨ CHEMICAL ABSTRACTS, vol. 110, no. 8, 20 February 1989, Columbus, Ohio, US; abstract no. 62516w, IWAMOTO 'MANUFACTURE OF GLASS-CERAMICS' page 311 ;column 1 ; see abstract & JP,A,63 201 020 (IWAMOTO) 19 August 1988 1,3,5,6 А CHEMICAL ABSTRACTS, vol. 90, no. 24, 11 June 1979, Columbus, Ohio, US; abstract no. 197143, KATO 'COLUMN FOR GAS AND LIQUID CHROMATOGRAPHY ' page 714 ; column 1 ; see abstract & JP, A, 7 909 691 (KATO) 24 January 1979 Further documents are listed in the continuation of box C. Patent family members are listed in annex. Special categories of cited documents: T later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance invention "E" earlier document but published on or after the international "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such docu-ments, such combination being obvious to a person skilled "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or in the art. document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed '&' document member of the same patent family Date of the actual completion of the international search Date of mailing of the international search report **0** 6. 07. 94 24 June 1994 Name and mailing address of the ISA Authorized officer European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL · 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax (+31-70) 340-3016 Wendling, J-P

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 1992)

International application No. PCT/EP 94/00488

		PC1/EP 94/00488
C.(Conunua Category	tion) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT  Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	DATABASE WPI Week 9103, Derwent Publications Ltd., London, GB; AN 91-019089 & JP,A,2 291 963 (MATSUNAMI GLASS) 3 December 1990 see abstract	1,3,5,6,
A	EP,A,O 220 764 (AGENCY OF IND. SCIENCE AND TECHN.) 6 May 1987  see page 4, line 1 - page 5, line 40 see page 6-7; claims 1-17	1,3
A	EP,A,O 313 090 (ASAHI) 26 April 1989 see page 3, column 4, line 6-7 see column 9-11; claims 1-19	1,3
A	FR,A,2 121 002 (SHIONOGI) 18 August 1972 see page 4, line 31 - page 5, line 8 see page 9-10; claims 1-12	1,3,5-7
A	US,A,4 933 307 (MARSHALL) 12 June 1990 see column 1, line 40 - column 2, line 56	1,3
A	EP,A,O 161 659 (FUJI PHOTO) 21 November 1985 see page 20; claims 1-3	1-4
A	EP,A,O 160 267 (KANTO) 6 November 1985 see page 22, line 24 - page 26, line 9	1,3
A	DE,A,41 02 635 (STEINACHGLAS) 6 August 1992 see page 2, line 1-7	1
A	US,A,3 549 524 (HALLER) 22 December 1970 see column 9-10; claims 1-13	1-4,10
A	WO,A,93 01494 (TOXI LAB) 21 January 1993 see page 32-35; claims 1-12	1,4,8
P,A	DE,A,42 05 969 (MERCK) 2 September 1993 cited in the application see column 8, line 4-32	

Information on patent family members

International application No. PCT/EP 94/00488

			1 0 17 0	
Patent document cited in search report	Publication date	Patent famil member(s)		Publication date
JP-A-63201020	19-08-88	NONE		
JP-A-7909691		NONE		
EP-A-0220764	06-05-87	JP-B- 2 JP-A- 62 CA-A- 1	617152 062503 202839 257299 778777	12-09-91 25-12-90 07-09-87 11-07-89 18-10-88
EP-A-0313090	26-04-89	US-A- 5	888079 030611 064075	07-04-94 09-07-91 05-03-90
FR-A-2121002	18-08-72		165398 117173	27-07-72 03-07-72
US-A-4933307	12-06-90	NONE		
EP-A-0161659	21-11-85	JP-A- 61	238758 104253 104254	27-11-85 22-05-86 22-05-86
EP-A-0160267	06-11-85	JP-B- 4 JP-A- 60 JP-C- 1 JP-B- 4 JP-A- 60 JP-A- 61 US-A- 4	734085 017900 226415 734086 017901 226416 147162 871693 698317	17-02-93 26-03-92 11-11-85 17-02-93 26-03-92 11-11-85 04-07-86 03-10-89 06-10-87
DE-A-4102635	06-08-92	NONE		
US-A-3549524	22-12-70	FR-A- 1	469260 504830 615823	11-05-67
WO-A-9301494	21-01-93	AU-A- 2	310992	11-02-93

Information on patent family members

International application No. PCT/EP 94/00488

Publication date	Patent memb	family per(s)	Publication date	
02-09-93	WO-A-	9316865	02-09-93	_
4				
·				
				٠
		•		
	date	02-09-93 WO-A-	02-09-93 WO-A- 9316865	02-09-93 W0-A- 9316865 02-09-93

A. KLASS IPK 5	ifizierung des anmeldungsgegenstandes G01N30/48 B01D15/08		
	sternationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen K	lassifikation und der IPK	
	ERCHIERTE GEBIETE ter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymb	ole )	
IPK 5	GOIN BOID BOIJ	,	
Recherchier	te aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, so ,	oweit diese unter die recherchierten Gebiet	e fallen
Während de	er internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (N	ame der Datenbank und evil. verwendete	Suchbegriffe)
C. ALS W	ESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angab	e der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	CHEMICAL ABSTRACTS, vol. 110, no. 20. Februar 1989, Columbus, Ohio, abstract no. 62516w, IWAMOTO 'MANUFACTURE OF GLASS-CER Seite 311 ;Spalte 1; siehe Zusammenfassung & JP,A,63 201 020 (IWAMOTO) 19. A 1988	US;	1,3
A	CHEMICAL ABSTRACTS, vol. 90, no. 11. Juni 1979, Columbus, Ohio, US abstract no. 197143, KATO 'COLUMN FOR GAS AND LIQUID CHROMATOGRAPHY' Seite 714; Spalte 1; siehe Zusammenfassung & JP,A,7 909 691 (KATO) 24. Janua	;	1,3,5,6
		-/	
	l tere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu iehmen	X Siehe Anhang Patent/amilie	
"A" Veröfi aber i "E" älteres Anme "L" Veröfi scheir ander soll o ausge "O" Veröfi eine I "P" Veröfi	fentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, nicht als besonders bedeutsam anzuschen ist  Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen idedatum veröffentlicht worden ist fentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft eren zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer en im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden der die aus einem anderen hesonderen Grund angegeben ist (wie führt) fentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, genutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht	kann nicht als auf erfindenscher Täti, wern die Veröffentlichung in Veröffentlichung en dieser Kategorie in diese Verbindung für einen Fachman "&" Veröffentlichung, die Mitglied derselt	ht worden ist und mit der  nur zum Verständnis des der  s oder der ihr zugrundeliegenden  eutung, die beanspruchte Erfindung  lichung nicht als neu oder auf  rachtet werden  eutung; die beanspruchte Erfindung  gkeit beruhend betrachtet  uit einer oder mehreren anderen  in Verbindung gebracht wird und  n naheliegend ist  been Patentfamilie ist
	Abschlusses der internationalen Recherche	Absendedatum des internationalen R  0 6. 07. 94	
<u> </u>	Postanschrift der Internationale Recherchenbehörde	Bevollmächtigter Bediensteter	
	Europäisches Patentamt, P.B, 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 IIV Rijswijk Tel. (+ 31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: ( + 31-70) 340-3016	Wendling, J-P	

C./Fortsets	ing) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN	FUI/EF	94/00488
Kalegorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht komm	enden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	DATABASE WPI Week 9103, Derwent Publications Ltd., London, GB; AN 91-019089 & JP,A,2 291 963 (MATSUNAMI GLASS) 3. Dezember 1990 siehe Zusammenfassung		1,3,5,6,
A	EP,A,O 220 764 (AGENCY OF IND. SCIENCE AND TECHN.) 6. Mai 1987 siehe Seite 4, Zeile 1 - Seite 5, Zeile 40 siehe Seite 6-7; Ansprüche 1-17		1,3
A	EP,A,O 313 090 (ASAHI) 26. April 1989 siehe Seite 3, Spalte 4, Zeile 6-7 siehe Spalte 9-11; Ansprüche 1-19		1,3
A	FR,A,2 121 002 (SHIONOGI) 18. August 1972 siehe Seite 4, Zeile 31 - Seite 5, Zeile 8 siehe Seite 9-10; Ansprüche 1-12		1,3,5-7
A	US,A,4 933 307 (MARSHALL) 12. Juni 1990 siehe Spalte 1, Zeile 40 - Spalte 2, Zeile 56		1,3
A	EP,A,O 161 659 (FUJI PHOTO) 21. November 1985 siehe Seite 20; Ansprüche 1-3		1-4
A	EP,A,O 160 267 (KANTO) 6. November 1985 siehe Seite 22, Zeile 24 - Seite 26, Zeile 9		1,3
A	DE,A,41 02 635 (STEINACHGLAS) 6. August 1992 siehe Seite 2, Zeile 1-7		1
A	US,A,3 549 524 (HALLER) 22. Dezember 1970 siehe Spalte 9-10; Ansprüche 1-13		1-4,10
A	WO,A,93 01494 (TOXI LAB) 21. Januar 1993 siehe Seite 32-35; Ansprüche 1-12		< 1,4,8
P,A	DE,A,42 05 969 (MERCK) 2. September 1993 in der Anmeldung erwähnt siehe Spalte 8, Zeile 4-32		1
	·		

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Im Recherchenbericht ngeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie		Datum der Veröffentlichung	
JP-A-63201020	19-08-88	KEINE			
JP-A-7909691		KEINE			
EP-A-0220764	06-05-87	JP-C- JP-B- JP-A- CA-A- US-A-	1617152 2062503 62202839 1257299 4778777	12-09-91 25-12-90 07-09-87 11-07-89 18-10-88	
EP-A-0313090	26-04-89	DE-D- US-A- JP-A-	3888079 5030611 2064075	07-04-94 09-07-91 05-03-90	
FR-A-2121002	18-08-72	DE-A- NL-A-	2165398 7117173	27-07-72 03-07-72	
US-A-4933307	12-06-90	KEINE			
EP-A-0161659	21-11-85	JP-A- JP-A- JP-A-	60238758 61104253 61104254	27-11-85 22-05-86 22-05-86	
EP-A-0160267	06-11-85	JP-C- JP-B- JP-C- JP-B- JP-A- JP-A- US-A- US-A-	1734085 4017900 60226415 1734086 4017901 60226416 61147162 4871693 4698317	17-02-93 26-03-92 11-11-85 17-02-93 26-03-92 11-11-85 04-07-86 03-10-89 06-10-87	
DE-A-4102635	06-08-92	KEINE			
US-A-3549524	22-12-70	CH-A- FR-A- NL-A-	469260 1504830 6615823	11-05-67	
WO-A-9301494	21-01-93	AU-A-	2310992	11-02-93	

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied Patent	l(er) der familie	Datum der Veröffentlichung
DE-A-4205969	02-09-93	WO-A-	9316865	02-09-93
	:			
				•
				· .
. ,				
•				